University of Tsukuba Library

Biogeochemical study on dynamics of chlorophyll derivatives in the aquatic environment

著者	佐藤 雄飛
内容記述	Thesis (Doctor of Environmental Studies)--University of Tsukuba, (A), no. 6534, 2013.3.25 Includes bibliographical references (leaves 78-87)
発行年	2013
URL	http://hdl.handle.net/2241/120674

【258】

氏　名（本籍）	佐藤雄飛（宮城県）
学位の種類	博　士（環境学）
学位記番号	博甲第 6534 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	**Biogeochemical Study on Dynamics of Chlorophyll Derivatives in the Aquatic Environment** （水圏環境におけるクロロフィル由来物質の動態に関する生物地球化学的研究）

主　査	筑波大学教授	理学博士	濱　健夫
副　査	筑波大学教授	理学博士	野本信也
副　査	筑波大学准教授	博士（理学）	廣田　充
副　査	筑波大学助教	博士（理学）	和田茂樹

論文の内容の要旨

水圏環境におけるクロロフィルは一次生産者である植物プランクトンに特異的な物質である。この特性により、クロロフィルの改変過程を追跡し、光合成生産物の初期続成過程を把握する試みが行われている。例えば、植物プランクトンの細胞老化で生成するクロロフィライド、動物プランクトンの摂食で生成するフェオフォルバイド類などを利用し、水柱における光合成生産物の改変要因が解析される。しかし近年、派生物と改変要因の関係は単一ではなく複合的であることが示唆されている。このことから、クロロフィルの改変過程の把握には改変要因の複合的・系統的な解析が必要であると考えられる。一方、クロロフィルの改変過程に関する別の未解明な点として、非蛍光性派生物の未評価が挙げられる。従来の研究では、光学的検出器を接続した高性能液体クロマトグラフ（HPLC）によりクロロフィル派生物が測定されているが、この測定では光学特性を失った派生物は検出されず、非蛍光性派生物の存在量は評価されない。これは水柱におけるクロロフィル派生物の分布や残存性に関して、正確に評価されていない可能性を示す。以上を踏まえ本研究では、光合成生産物の微生物分解実験と現場観測により、クロロフィルの改変過程に関する系統的な解析を試みた。その際、光学的特性に依存しないクロロフィル派生物の測定法を開発し、それらの実験に適用した。これにより、従来の研究では不明瞭であったクロロフィル改変過程を明らかにし、光合成生産物の改変過程に対する指標性を検討することを目的とした。

光学特性に依存しないクロロフィル派生物の測定について、クロロフィル派生物中に共通して含まれる環構造であるクロリン環を定量することにより派生物総量の推定を試みた。具体的には、クロム酸酸化によりクロリン環より生成するエチルメチルマレイミド（EMMi）をガスクロマトグラフ / 質量分析計（GC/MS）によって検出することにより定量を行う。まず本手法を標準試料、その後、自然海水試料を用いて検証を行った。その結果、派生物の種類に依存せず定量が可能であることが示唆され、また測定誤差範囲はおよそ 10 %であった。

培養実験に関して、まず微生物群集を含む沿岸海水を培養容器に移し、各種栄養塩類添加し光合成生産を

行わせた。その後、容器を暗所に3ヶ月間静置し、光合成生産物の微生物分解実験を行った。実験期間中は隔日で採水を行い、ガラス繊維ろ紙を用いて試水中の懸濁態有機物（POM）を回収し、そこに含まれるクロロフィル派生物の分析を行った。分析はHPLCを用いて8種類の蛍光性派生（HPLC-chlorin）を、クロム酸酸化法を用いて全クロロフィル派生物（bulk chlorin）の測定を行った。また実験期間中、顕微鏡観察により動物プランクトンの有無を確認したがほとんど見られなかった。このことから、従属栄養生物による改変要因はバクテリア分解が主体であったことが推測される。HPLC-chlorinに関して、培養の進行に伴い、chlorophyll *a*（Chl *a*）から1ヶ所の置換基が改変した派生物（SRF）、2ヶ所改変した派生物（DRF）、3ヶ所改変した派生物（TRF）と優占する色素群が変化する傾向が確認され、TRFまでの改変にかかる時間は約1ヶ月であった。またこの際、相当量のpheophorbide *a*（Pbide *a*）が生成した。従来の知見では水柱においてPbide *a*の主な生成要因は動物プランクトンによる摂食活動とされていたが、本研究によりバクテリア分解過程の寄与も大きい可能性が示された。しかしながら、Pbide *a*の生成速度に関して、動物プランクトンによる場合、1日以内で生成が行われるのに対し、バクテリアによる場合は1週間程度であることが示唆され、この点には差があると考えられる。bulk chlorinに関して、培養期間を通じてHPLC-chlorinより高濃度で存在したが、培養の進行に伴いその傾向が顕著になり、培養2ヶ月でHPLC-chlorinの寄与率は2％以下となった。これはクロロフィルの改変過程において、その一部が非蛍光性クロロフィル派生物（NCDs）として残存することを示唆する。また培養1ヶ月以降、bulk chlorinはあまり濃度変化を示さなかったことから、NCDsは微生物分解に対し難分解であることが示唆された。

培養実験によって得られた知見を検証するため、東シナ海において現場観測を行った。黒潮付近の大陸棚に位置する5地点より、鉛直的に試水を採取し、そこに含まれるクロロフィル派生物の分析を、培養実験と同様に行った。HPLC-chlorinに関して、Chl *a*とフェオフォルバイド類の鉛直分布が大きく異なることが確認された。従来の研究によれば、フェオフォルバイド類は動物プランクトンの摂食により生成し、その結果としてChl *a*濃度が高い水深で最も高濃度となることが報告されている。しかしながら本観測においては、バクテリアによるフェオフォルバイド類の生成が行われた結果、フェオフォルバイド類が深層部で高濃度となったことが示唆された。bulk chlorinに関して、観測地点や深度によらずHPLC-chlorinの10倍近くの濃度が検出された。これは水柱の全層においてNCDsの蓄積が起こることを示唆し、実際の環境中においてもHPLC-chlorinに比べNCDsが難分解であることを示す。最終的に本研究では、培養実験と現場観測の結果を合わせ、水柱における光合成生産物の分解過程に対応した、Chl *a*からNCDsまでの改変過程を示した。これは従来の研究では考慮されていなかった時系列的な情報やNCDsの蓄積過程について明らかにされており、有機物の続成過程の解析に有用な情報を与えるものであると考えられる。

審査の結果の要旨

海洋、湖沼などの水圏環境の物質循環を研究するにあたり、一次生産者である植物プランクトンのみが保有するクロロフィルの分解過程は、光合成により供給された有機物の動態を解析する際の重要な情報となる。本研究において行われた詳細な分析結果により、クロロフィル派生物の変化の過程が詳細に明らかになった。また、それらの変化について、時間スケールを与える事ができた点は、海洋等の水圏環境における植物プランクトン有機物の初期続成過程の解析において重要な情報となることから、高く評価できる。更に、続成過程において蛍光を失うクロロフィル派生物の定量法として、クロム酸酸化法を確立して海水試料に適用し、非蛍光性クロロフィル派生物が、海域を問わず比較的高濃度で存在していることを示した。本成果は、海水中の有機物に対するクロロフィル派生物の寄与に関する従来の知見を覆すものであり、海洋の炭素長期保存機能におけるクロロフィル派生物の役割を示した点で注目される。

これらの培養実験で得られた知見を実際の海洋に展開し、クロロフィルの変性過程に関して、特にバクテリアの寄与に関する考察から、海洋における植物プランクトン有機物の初期続成過程の時間スケール、およびクロロフィル変性に関する生物及び非生物学的要因を推定することができた。この解析は、海洋における有機物の動態の理解において、大きな貢献をもつものと思われる。

平成 25 年 1 月 23 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（環境学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。